

1-2.

発達段階の動脈管におけるプロスタグランジン E2 受容体 EP4 と神経の分布の変化

(大学院修士課程2年細胞生理学分野)

○岡 沙由稀

(細胞生理学分野、横浜市立大学医学部産婦人科)

野口 貴史

(細胞生理学分野)

横山 詩子

【背景】 動脈管は胎生後期から出生直後にかけて内膜肥厚と収縮により閉鎖するが、このような短期間での顕著なリモデリングは動脈管で特徴的である。これまで、プロスタグランジン E2 が EP4 受容体と結合し、動脈管の開存と閉鎖の両方で主要な役割を果たすことが明らかになっている。我々は胎生後期のラット動脈管で EP4 mRNA が大動脈より多く発現し、胎生満期に最大となることを明らかにした。しかし、発達段階における詳細な EP4 の発現分布は未解明である。また、動脈管の周囲には複数種類の神経が存在し、動脈管収縮に関与することが報告されている。そこで、動脈管における神経支配と EP4 発現が関連していると仮説を立て、動脈管における EP4 発現と神経の局在を検討した。

【方法】 EP4 配列に IRES-nlsLacZ を組み込んだ EP4 レポーターマウスを作製した。胎生 11 日～出生後 14 日の EP4 レポーターマウスを X-gal 染色した後に、パラフィン切片を作製し、EP4 発現を評価した。発達中の神経に特異的に発現する分子である、ポリシアル化神経細胞接着分子 (PSA-NCAM) に対する抗体を用いた免疫染色により、神経の局在を検討した。

【結果・考察】 胎生 14 日から動脈管で EP4 が発現し、胎生満期で最も多く発現した。EP4 は動脈管平滑筋層に発現し、特に外膜側で高発現していた。出生後 2 日には動脈管の EP4 発現が減少し、出生後 14 日には完全に消失した。発達段階を通じて他の胸腔内臓器に EP4 は発現していなかった。

胎生 11 日には、後に動脈管に分化する第 6 咽頭弓動脈の平滑筋層に神経が侵入していた。胎生 13 日の動脈管には EP4 発現に先行して外膜から平滑筋層まで神経が侵入しており、胎生満期には平滑筋層のより深くまで神経が入り込んでいた。胎生 13

日～胎生満期まで、動脈管に隣接する大動脈や主肺動脈や他の血管では平滑筋層への神経の侵入はなかった。

【結論】 動脈管特異的に神経分布が認められ、EP4 発現に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

1-3.

Prediction Of Neurocognitive Disability With Magnitudes Of Glucagon-like Peptide-1 Secretion In Offspring From Mother With Diabetes

(糖尿病・代謝・内分泌内科学分野)

○佐々木順子、岩崎 源、伊藤真理子、

石井慶太郎、マルハバアルキン、諏訪内浩紹、

小田原雅人、鈴木 亮

(東京大学：糖尿病・代謝内科)

リコクキョウ

(Children's National Medical Center: Center for Neuroscience)

Torii Masaaki, Hashimoto-Torii Kazue

Diabetes during pregnancy has been linked with an increased risk of developing metabolic disorders and behavioral abnormalities in the offspring. However, the correlation between those two phenotypes in offspring from mother with diabetes (OMD) has not been tested. We therefore examined the correlation between motor skill learning and glucose tolerance, including glucagon-like peptide-1 (GLP-1) secretion in OMD. ICR female mice received intraperitoneal injection (i.p.) of 150 mg/kg streptozotocin at six weeks old. Control female was administered with the vehicle. Mating was done with normal male and all of pups were born in term. Motor skill learning was tested on accelerated rotor rod at postnatal 30 days (P30). A learning index was calculated for each animal by averaging the difference in terminal speed when the mouse fall from the rotor rod. Motor learning is impaired in OMD. Following the behavior test, insulin tolerance test, oral glucose tolerance test (OGTT) and intraperitoneal glucose tolerance test (IPGTT) were performed. The plasma glucose of OMD is significantly increased in OGTT, but was decreased in IPGTT. We couldn't observe any significance, but OMD tended to have higher total GLP-

1 secretion but lower active GLP-1 (aGLP-1) levels. Notably, poor learners of motor skill show significantly lower a GLP-1 secretion than the good learners. Furthermore, in OMD, neuronal morphology was abnormal in the motor cortex that controls the motor skill learning. These results demonstrate that aGLP-1 secretion serve as predictors of motor skill learning deficiencies.

1-4.

重症筋無力症と筋萎縮性側索硬化症の神経反復刺激試験における U-shape の違い

(八王子：脳神経内科)

○上田 優樹、田口 丈士

(脳神経内科)

赫 寛雄、相澤 仁志

【目的】 神経反復刺激試験は、重症筋無力症 (MG) と筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の診断に有用な神経生理学的検査である。重症筋無力症 (MG) での神経反復刺激試験の漸減応答は、第4ないし第5刺激で最大となりその後回復する、いわゆる U-shape を呈するとされる。一方、筋萎縮側索硬化症 (ALS) では U-shape を呈さないとされるが、これを十分検討した報告はない。本研究では MG と ALS の U-shape の違いを検討した。

【方法】 2009年5月から2017年1月までの筋電図検査データベースを後方視的に検討し、短母指外転筋 (APB) または僧帽筋 (Trap) で減衰率の最大値が10%以上だった未治療のMG患者とALS患者を抽出した。最大減衰時の複合筋活動電位振幅に対する第10刺激の振幅の増大率 recovery rate (RRamp) を求め、疾患間と筋間で比較した。

【結果】 MG患者36例、ALS患者12例が抽出された。MG、ALSそれぞれのRRは、APBでは $4.2 \pm 2.2\%$ 、 $1.5 \pm 1.1\%$ 、Trapでは $3.2 \pm 2.7\%$ 、 $1.7 \pm 1.0\%$ であった。RRは、APBとTrapのいずれにおいてもMGで有意に高値であった。

【結論】 ALS患者と比べてMG患者ではU-shapeを呈しやすいが、その程度は軽く従来言われていたほどではない。ALSはpresynapticな障害のため、mobilization store から immediately available store への補充が不十分で、U-shapeを呈しにくい可能性が

想定されているが、pseudofacilitationの関与についても検討する必要がある。

1-5.

Transcriptional regulation of pomc neurogenesis in chick embryo revealed by a single-cell RNA-seq-based approach

(組織・神経解剖学分野)

○大山 恭司、金城ありさ、中村 剛

(Department of Biomedical Science, University of Sheffield, UK)

Elsie Place, Liz Manning, Marysia Placzek

Hypothalamic pomc neurons play key roles in feeding and energy homeostasis, but its development is still poorly understood. Taking advantages of using chick embryo to study early hypothalamus, we performed single-cell RNA-seq of Hamburger-Hamilton stages (HH) 8-20 chick hypothalamus, together with hybridization chain reaction (HCR) and immunolabelling.

Here we first show that EMT transcription factors Sox2, Sox9, Prox1, and Isl1 are expressed in a sequential manner during pomc neurogenesis. At HH8-10, Sox2 was expressed in the antero-tuberal hypothalamus. At HH13-14 Sox9 expression was initiated in the Sox2+/Shh+ region. Then, at HH17-25, Prox1 and Isl1 expressions were found during the course of pomc neuronal differentiation.

Ex vivo analysis further show that Shh is required for the establishment of Sox9+ neurogenic ventricular zone cells of the hypothalamus, whereas Notch is necessary for their maintenance. Notch also limits not only the production of Prox1+ intermediate progenitors but also their cell cycle exit to become p57+/Isl1+ post-mitotic pomc neurons.

Together, Shh and Notch control pomc neurogenesis through the regulation of the sequentially expressed EMT-TFs.